UNTERSUCHUNGEN ZUR RESORPTION VON VERSCHIEDENEN AMINOSÄUREN IN VIVO

Peter Ulbrich

1967

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

UNTERSUCHUNGEN ZUR RESORPTION VON VERSCHIEDENEN AMINOSÄUREN IN VIVO

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

P e t e r U l b r i c h
aus Stargard

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz.Dr.H.MEHNERT
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.W.SEITZ
Dekan:	Prof.Dr.M.KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 14.3.1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	EINLEITUNG	Seite	5
II.	MATERIAL und METHODIK		6
	A Prüfsubstanzen		6
	B Chemische Nachweise		6
	C Versuchsanordnung		9
III.	ERGEBNISSE		11
	Tabellen und Abbildungen		12
IV.	DISKUSSION		24
V.	ZUSAMMENFASSUNG		29
VI.	LITERATURVERZEICHNIS		30

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0054

I. EINLEITUNG

Die Resorption von Aminosäuren wurde in den letzten Jahren vor allen Dingen mit in vitro-Methoden untersucht. Verschiedene Arbeitsgruppen wandten insbesondere die von AGAR, HIRD und SIDHU (1,2) sowie von CRANE und MANDELSTAM (3) entwickelte Inkubation von Darmstückchen in Lösungen an. Die Aminosäurelösungen enthalten markierte Aminosäuren, deren Akkumulation im Gewebe gemessen wird. Dabei wird jedoch nicht berücksichtigt, daß neben jenen Aminosäuren, die in freier Form akkumuliert sind, auch die Aminosäuren erfaßt werden, die komplex in der Zelle gebunden oder die bereits im Eiweiß eingebaut sind.

Mit dieser Methode wurden spezifische Transportsysteme für Aminosäuren nachgewiesen. WISEMAN (20) hatte früher das Vorhandensein von solchen Transportsystemen nach den Ergebnissen anderer Untersuchungen bestritten. Da unseres Wissens keine ausgedehnteren Untersuchungen mit in vivo-Methoden vorliegen, sollte mit der von FÖRSTER und MEHNERT (5) entwickelten Methode der Darmperfusion die Abhängigkeit der Aminosäureresorption von der Konzentration der Aminosäuren im Dünndarm der Ratte geprüft werden. Mit dieser Fragestellung lassen sich ebenfalls Hinweise auf Transportsysteme finden.

Die Anwendung der Kollidon-Clearance (13) erlaubt eine genaue Aussage über das Ausmaß der Flüssigkeitsveränderung im Dünndarm sowie eine Berechnung der resorbierten Substanzmenge.

II. MATERIAL und METHODIK

A Prüfsubstanzen

Es wurden folgende gereinigte Aminosäuren geprüft:

Glycin (Mol.Gew. 75,07, als Glycocoll nach Sörensen, E. Merck A.G. Darmstadt)
in 0,1/0,25/0,5/1,0/2,0/3,0/4,0/5,0 u. 10,0 %-iger Lösung.

L-Alanin (2-Aminoproprionsäure, Mol.Gew. 89,09, Fluka A.G. Buchs SG)
in 0,1/0,25/0,5/1,0/2,0/3,0/4,0/5,0 u. 10,0 %-iger Lösung.

L-Leucin (L-Amino-β-methyl-n-valeriansäure, Mol.Gew. 131,18, Fluka A.G. Buchs SG)
in 0,1/0,25/0,5/1,0 u. 2,0 %iger Lösung.

L-Asparaginsäure (L-Aminobernsteinsäure, Mol.Gew. 133,11, Fluka A.G. Buchs SG)
in 0,1/0,25/0,5/1,0/2,0 u. 5,0 %iger Lösung.

L-Lysin (Mol.Gew. 146, Fluka A.G. Buchs SG)
in 0,1/0,25/0,5/1,0/2,0 u. 5,0 %iger Lösung.

B Chemische Nachweise

a) Nachweis von Kollidon, modifiziert nach SCHUBERT und WAGNER (17)

2 ml Perfusat wurden mit aqua destillata auf 25 ml aufgefüllt. Davon wurden 3 ml abpipettiert, mit 1 ml 10 %iger Kupfer-Sulphatlösung versetzt und im siedenden Wasserbad zwei Minuten erhitzt. Das Kupfersulphat wurde mit 1 ml 10,61 %iger Kaliumferrocyanid-

lösung ausgefällt. Danach wurde abgekühlt, gut durchgeschüttelt und zentrifugiert.

Vom Überstand wurde 1 ml mit 5 ml Jodjodkalilösung (0,08 mol KJ: 0,01 mol Jodsublimat) versetzt, wobei es bei Vorhandensein von Kollidon zu einer Farbvertiefung kommt, die durch Bildung eines Kollidon-Jod-Komplexes entsteht.

Dieser Komplex wird mit 2,5 ml 10 %iger Salzsäure ausgefällt, zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Der Niederschlag wird mit 25 ml Methylalkohol aufgenommen und die Farbintensität am Photometer "Eppendorf" bei 436 mμ gemessen.

Nach Aufnahme einer Extinktionskurve am Spektralphotometer entschied man sich für diese Wellenlänge, obwohl diese ziemlich am Rande des bei 358 mμ befindlichen Maximum liegt. Sie zeigte aber den Vorteil eines größeren Messbereiches.
Es mußte sofort abgelesen werden, da der Kollidon-Jod-Komplex beim Stehen eine Farbintensitätsminderung erfährt.

b) Nachweis der Aminosäuren im Perfusat nach TROLL und CANNAN (19)

Von dem Perfusat wurden 2 ml abpipettiert und mit aqua destillata auf 25 ml aufgefüllt. Je nach der Aminosäurekonzentration in der Perfusionslösung wurden Verdünnungsreihen aufgestellt, um in den geeigneten Ablesebereich des pH-Meters zu gelangen. Von dem umgeschüttelten verdünnten Perfusat wurden 0,5 ml abpipettiert und mit je 1 ml aqua dest. und 1,0 ml TES 10 % versetzt.

Nach kurzem Stehenlassen wurde filtriert. Vom Filtrat wurden nun 0,5 ml abpipettiert und mit je 1 ml KCN-Pyridinreagens und 1 ml Phenol 80 %ig ver-

setzt. Das Gemisch wurde umgeschüttelt und im siedenden Wasserbad drei Minuten erhitzt. Nach Zusatz von 0,2 ml Ninhydrin 5 %ig in absolutem Alkohol wurde nochmals im siedenden Wasserbad 4 Minuten erhitzt. Nach Abkühlung wurde mit 10 ml Äthanol 60 %ig aufgefüllt. Die Ablesung der Farbintensität, die ein Maß für die Aminosäurekonzentration darstellt, erfolgte am Spektralphotometer "Eppendorf" bei der Wellenlänge 578 mμ gegen Reagentienleerwert.

c) Blutzuckernachweis

Um während des Verlaufes der Perfusion Aufschluß über den unterschiedlichen Einfluß der einzelnen Aminosäuren auf den Blutglucosespiegel zu gewinnen, wurde neben dem Blutglucosewert nach Laparotomie auch die Blutglucose am Ende der Perfusion bestimmt. Dabei wurde aus dem Schwanz der Ratte 0,05 ml Blut entnommen, in 1 ml Perchlorsäure eingeblasen und nach Aufschütteln zentrifugiert. Vom Überstand wurden 0,5 ml abpipettiert und die Glucose enzymatisch gegen einen Vergleichswert nachgewiesen.

Der Nachweis erfolgte nach der von KEILIN und HARTREE (12) entwickelten Methode, modifiziert nach HUGGET und NIXON (9), (Böhringer Testverfahren TCM). Dieser Fermentnachweis beruht auf der von der Glucose-Oxydase katalysierten Oxydation der Glucose zu Glucuronsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht, das in Anwesenheit von Peroxydase o-Dianisidinhydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff oxydiert.

Die Konzentration dieses Farbstoffes, der bei 436 mμ im Photometer "Eppendorf" gemessen wird, erlaubt eine quantitative Bestimmung der Glucose.

C Versuchsanordnung

Resorptionsprüfung mit Hilfe der Darmperfusion

Es wurde dabei eine von FÖRSTER und MEHNERT (5) beschriebene Methodik angewandt.

Zu den Versuchen wurden 408 männliche Albinoratten mit einem Gewicht von 170 - 240 Gramm verwendet, die mit einer Standardkost gefüttert worden waren, welche aus Brot, Salatblättern und Fischmehl bestand.

24 Stunden vor Versuchsbeginn erhielten die Tiere keine Nahrung mehr und wurden in Einzelkäfige gesetzt, deren Bodengitter eine Maschenweite von 1 qcm hatte, um zu verhindern, daß die Tiere ihren eigenen Kot fraßen. Es wurde dadurch ein weitgehend kotfreier Dünndarm erhalten.

Zu Beginn des Versuches wurde den Ratten 1ccm 10 %-iger Urethanlösung pro 100 Gramm Körpergewicht subcutan injiziert. Diese Basisnarkose wurde dann durch Äther vertieft.

Das Abdomen der narkotisierten Ratte wurde mit einem Medianschnitt entlang der linea alba eröffnet. Durch den Magen wurde dann eine Knopfkanüle ins Duodenum eingeführt und fest eingebunden. Im unteren Ileum wurde ein 10 cm langer Kunststoffschlauch von 0,5 cm Durchmesser etwa 5 cm vom Coecum entfernt in den Dünndarm eingeführt und dort befestigt. Die Perfusionslösung wurde mit Hilfe eines Kunststoffschlauches über die Knopfkanüle in den Darm geleitet.

Durch diese Anordnung wird es möglich, unter Umgehung des Magens Aminosäurelösung mittels einer Pumpe kontinuierlich zu perfundieren. Über eine Zeitdauer von 60 Minuten wurden jeweils 60 ml der zu

prüfenden Aminosäurelösungen, denen konstant 1,6 % Kollidon beigegeben waren, perfundiert. Die Prüfsubstanz wurde während der Versuchsdauer durch einen Thermostaten auf Körpertemperatur gehalten.

Die Aminosäuren, Kollidon und der Blutzucker wurden mit den unter "B" angegebenen Methoden nachgewiesen.

An 15 Tieren wurde an Hand einer "Leerperfusion" geprüft, in welchem Maße mit einer Ausschwemmung von freien Aminosäuren aus der Darmwand bei Perfusion nur mit aqua dest. zu rechnen ist. Die dabei festgestellten Aminosäurekonzentrationen wurden in die Berechnung der Resorption von 0,1 bis 0,25 %igen Aminosäure-Perfusionslösungen einbezogen.

III. E R G E B N I S S E

Die Ergebnisse sind aus den sechs (6) folgenden Tabellen und 4 Abbildungen zu ersehen.

Abkürzungen für die nachstehenden Tabellen:

$\bar{x}$ = Mittelwert

$s_{\bar{x}}$ = Streuung

n = Anzahl der Versuchstiere

TABELLE I

Die Resorption von Glycin aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg Glycin in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzucker-anfangs- u. endwert in mg %
0,1	9	231	60	22,55	1,32	37,8	3,42	45,8	+ 48,7 *)
0,25	9	217	150	46,50	3,94	30,6	1,04	46,8	+ 47,3
0,5	12	222	300	77,2	8,02	19,3	1,91	45,1	+ 49,2
1,0	9	198	600	42,2	5,71	7,0	0,85	53,0	+ 58,0
2,0	14	195	1200	74,3	19,92	6,2	1,35	61,8	+ 37,4
3,0	11	225	1800	153,8	33,76	8,5	1,96	61,2	+ 10,5
4,0	12	200	2400	304,8	32,40	13,6	1,37	60,2	+ 27,5
5,0	18	208	3000	585,0	37,61	19,5	3,01	70,5	+ 16,0
10,0 **)	12	210	6000	556,0	78,68	9,4	1,56	60,5	- 10,0

*) + = Anstieg des Blutzuckerspiegels; - = Unterschreiten des Anfangsblutzuckerwertes

**) Tiere befanden sich bei Versuchsende in schlechtem Allgemeinzustand

TABELLE II

Die Resorption von L-Alanin aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg L-Alanin in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzucker-anfangs- u. endwert in mg %
0,1	9	194	60	28,6	1,27	47,6	2,17	50,9	+ 29,0
0,25	8	218	150	43,3	2,45	29,0	1,73	49,5	+ 31,0
0,5	14	189	300	92,0	5,37	32,5	1,64	50,0	+ 35,0
1,0	12	215	600	76,0	12,40	12,7	1,97	48,5	+ 61,0
2,0	12	189	1200	201,8	20,14	16,8	1,75	52,9	+ 51,25
3,0	12	234	1800	183,1	18,22	10,2	1,10	58,8	+ 40,0
4,0	12	238	2400	242,0	42,92	10,1	1,76	63,5	+ 31,0
5,0	12	192	3000	367,0	64,00	12,2	2,13	72,0	+ 30,25
10,0 **)	6	227	6000	1055,0	189,5	17,6	2,21	65,5	+ 14,5

**) Diese Tiere befanden sich bei Versuchsende in schlechtem Allgemeinzustand

TABELLE III

Die Resorption von L-Lysin aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg L-Lysin in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzuckeranfangs- u. endwert in mg %
0,1	6	208	60	17,6	2,43	35,4	2,89	50,0	+ 28,0
0,25	9	208	150	36,4	2,49	23,1	1,44	50,8	---
0,5	11	198	300	42,6	3,01	14,1	0,96	43,0	+ 30,3
1,0	6	186	600	42,5	11,22	7,1	1,78	63,0	+ 27,7
2,0	12	212	1200	107,1	22,10	8,2	1,88	63,1	+ 20,4
5,0**)	6	186	3000	380,0	47,85	12,6	1,69	59,0	+ 11,5

**) Diese Tiere befanden sich bei Versuchsende in schlechtem Allgemeinzustand

Bei Perfusion mit 10 %iger L-Lysin-Lösung starben die Tiere vor Versuchsende.

TABELLE IV

Die Resorption von L-Asparaginsäure aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg L-Asparaginsäure in der Persionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzucker-anfangs- u. endwert in mg %
0,1	8	200	60	5,9	1,86	13,5	2,55	55,1	+ 43,7
0,25	6	233	150	31,6	3,71	21,0	2,45	46,3	---
0,5	12	205	300	86,1	4,27	26,6	1,28	44,2	+ 45,5
1,0	11	226	600	121,1	20,14	20,2	3,31	50,4	+ 54,6
2,0	7	207	1200	96,3	22,53	8,3	2,12	58,5	+ 65,6
5,0**)	12	188	3000	146,0	22,14	4,4	0,951	67,2	+ 8,5

**) Diese Tiere befanden sich bei Versuchsende in schlechtem Allgemeinzustand

TABELLE V

Die Resorption von L-Leucin aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg L-Leucin in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzuckeranfangs- u. endwert in mg %
0,1	9	197	60	25,9	1,49	43,2	2,46	50,8	+ 48,0
0,25	6	215	150	46,2	3,65	30,8	2,74	48,0	+ 31,7
0,5	12	210	300	84,0	4,71	28,0	1,79	46,4	+ 36,8
1,0	14	205	600	36,6	7,61	6,1	1,24	55,0	+ 63,2
2,0	13	225	1200	118,5	15,58	9,8	1,31	52,5	+ 38,1

TABELLE VI

Die Resorption von L-Glutaminsäure aus dem perfundierten Dünndarm der lebenden Ratte

Volumen der Perfusionslösung 60 ml, Versuchsdauer 60 min

Konzentration der Lösungen in %	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten in g	mg L-Glutaminsäure in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	Flüssigkeitsvolumenveränderung am Ende der Perfusion in ml	Differenz zwischen Blutzucker-anfangs- u. endwert in mg %
0,1	6	210	60	18,9	2,79	31,6	4,60	51,0	+ 33,7
0,25	6	201	150	36,1	1,27	22,7	1,18	49,5	---
0,5	12	193	300	76,9	5,86	25,6	1,69	45,0	+ 32,5
1,0	6	189	600	115,8	12,96	19,0	2,25	44,8	+ 47,0

An 15 Ratten (Durchschnittsgewicht 215 g) wurde eine Perfusion ohne Aminosäurezusatz im Perfusionsmedium vorgenommen ("Leerperfusion"). Der durchschnittliche Blutzuckeranstieg nach 60 min betrug 27,8 mg %.

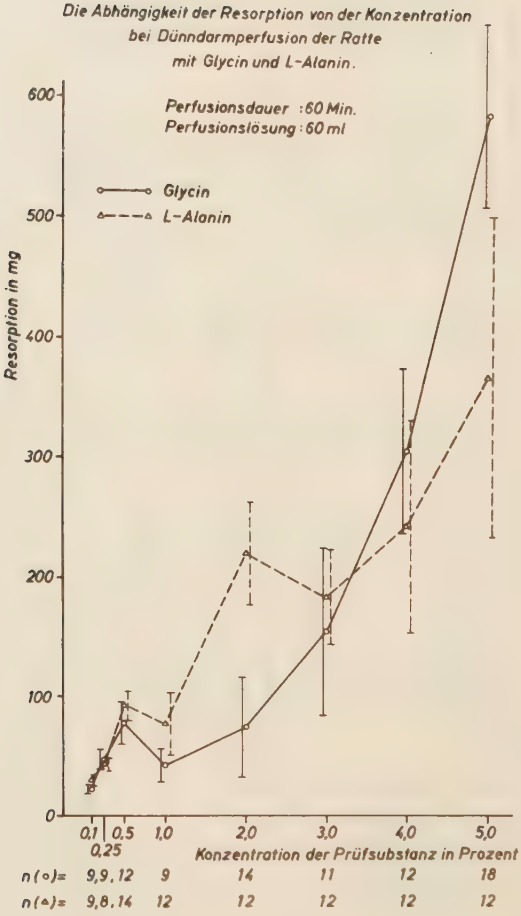
Die Abhängigkeit der Resorption von der Konzentration
bei Dünndarmperfusion der Ratte
mit Glycin und L-Alanin.
Perfusionsdauer :60 Min.
Perfusionslösung :60 ml
Glycin
L-Alanin
Resorption in mg
600
500
400
300
200
100
0
0,1
0,25
0,5
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
Konzentration der Prüfsubstanz in Prozent
n(○)= 9,9,12 9 14 11 12 18
n(△)= 9,8,14 12 12 12 12 12

Abbildung 1

Die Abhängigkeit der Resorption von der Konzentration bei Dünndarmperfusion der Ratte mit L-Lysin.

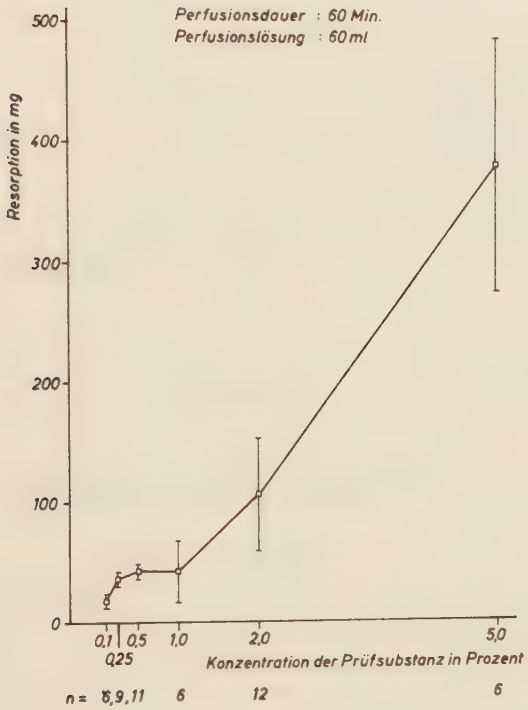

Abbildung 2

Die Abhängigkeit der Resorption von der Konzentration bei Dünndarmperfusion der Ratte mit L-Asparaginsäure.

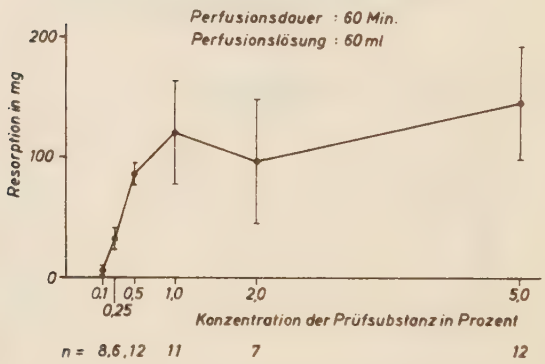

Abbildung 3

Die Abhängigkeit der Resorption von der Konzentration bei Dünndarmperfusion der Ratte mit L-Leucin.

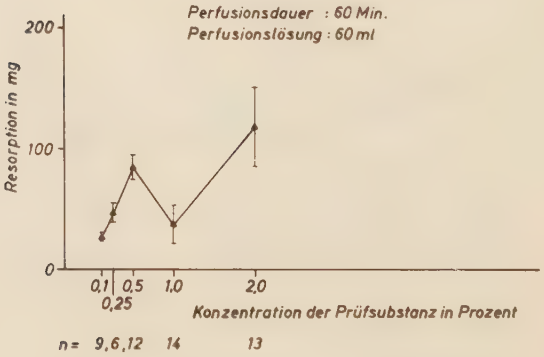

Abbildung 4

Aus Abbildung 1 - 4 ist zu ersehen, daß sich im Prinzip alle Aminosäuren gleichsinnig verhalten. Es ist regelmäßig im unteren Konzentrationsbereich (bis 1 %) eine Zunahme der Resorption in mg festzustellen, dann um 1 % entweder ein "Resorptionsplateau" (z.B. L-Lysin) oder sogar ein sprunghaftes Absinken der Resorption (z.B. Glycin).

Bei höheren Aminosäurekonzentrationen kommt es dann regelmäßig zu einem nicht mehr linearen Anstieg der Resorption. In Näherung entspricht der Anstieg einer Exponentialfunktion. Eine Verdoppelung der Aminosäurekonzentration führt zu mehr als einer Verdoppelung der Resorption.

Die eigenartige Form der Kurven (Abbildung 1 - 4) läßt sich nur durch die Überlagerung verschiedener Vorgänge erklären. Im unteren Konzentrationsbereich folgt die Resorption offensichtlich anderen Gesetzmäßigkeiten als im höheren Konzentrationsbereich.

Drei Möglichkeiten für die Deutung dieser Befunde bieten sich an:

Erstens kann es sich um die Überlagerung eines aktiven Transportvorganges bei sukzessiver Vergiftung des Carriers mit einem passiven Transportvorgang handeln. Der passive Transportvorgang müßte unter diesen Bedingungen nicht einmal unbedingt einer Exponentialfunktion gehorchen.

Zweitens kann es sich aber auch um einen passiven Transportvorgang (passiven Carriermechanismus) handeln, bei dem das Transportsystem durch Substratüberschuß gehemmt wird. Überlagert würde dieser Vorgang ebenfalls durch einen passiven Diffusionsmechanismus.

Eine dritte Möglichkeit wäre bei Fehlen eines Transportmechanismus mit sukzessiver Vergiftung der Darm-

epithelzellen gegeben; bei höheren Aminosäurekonzentrationen käme es dann zu einem passiven Einstrom der Aminosäuren durch die stark geschädigten Darmepithelzellen.
Es kann als sicher gelten, daß auch bei höheren Konzentrationen von Aminosäuren die Resorption passiv durch Diffusion erfolgt, wie dies z.B. FRIEDRICH (7) für die Pentosen nachgewiesen hat. Die Perfusion von Aminosäurelösungen in sehr hoher Konzentration führt aufgrund toxischer Wirkung zum Tod der Tiere.
Die toxische Grenzkonzentration ist bei verschiedenen Aminosäuren unterschiedlich hoch. Bei L-Lysin und L-Asparaginsäure führen bereits Aminosäurekonzentrationen über 5% in der Perfusionslösung, bei Glycin und L-Alanin erst über 10 % zum vorzeitigen Exitus letalis. Bei L-Glutaminsäure und L-Leucin wird aufgrund der schlechten Löslichkeit diese letale Konzentration nicht erreicht. Die "Hemmung" der Glycinresorption bei einer Konzentration von 10 % ist bereits als sicher toxischer Effekt zu deuten. Der Blutzuckerspiegel sinkt bei diesen Tieren während der Perfusion ab. Außerdem war der Zustand der Tiere am Ende der Perfusion sehr schlecht. Bei 10 % L-Alanin läßt sich eine Verminderung des Blutzuckeranstieges während der Perfusion nachweisen. Die Resorption von 10 % L-Alanin ist jedoch gegenüber 5 % verdreifacht. Auch diese Tiere waren am Ende der Perfusion in relativ schlechtem Allgemeinzustand.
Bereits eine "Leerperfusion", das heißt eine Perfusion von aqua dest. ohne Aminosäurezusatz, führt zu einem Blutzuckeranstieg von durchschnittlich 28 mg %. Lediglich Blutzuckeranstiege von mehr als 28 mg % sind demnach auf die Aminosäureresorption zu beziehen. Bei dem während der Leerperfusion erfolgenden Blutzuckeranstieg handelt es sich um die Wirkung von Narkose und Operation

auf das Vegetativum, wie es STÜBNER (18) nachweisen konnte.
Eine Verminderung des Blutzuckeranstieges bei Perfusion mit hohen Aminosäurekonzentrationen sollte als toxische Wirkung gedeutet werden. Die Blutzuckersteigerung ist im Übrigen generell nicht sehr hoch. Nach Perfusion von L-Lysin fehlt der Blutzuckeranstieg völlig. Bei den übrigen Aminosäuren fällt das Maximum des Blutzuckeranstieges mit dem "Resorptionsplateau" zusammen.
Bei höheren Konzentrationen in der Perfusionslösung kommt es trotz raschen Anstieges der Aminosäureresorption, wie erwähnt, zu einem Absinken des Blutzuckerspiegels unter jene Werte, die bei "Leerperfusion" erhalten werden.

IV. DISKUSSION

Die Ansichten über die Aminosäureresorption waren immer widersprüchlich. Bereits vor 30 Jahren vertraten HÖBER und HÖBER (8) die Ansicht, daß aktive Vorgänge bei der Aminosäureresorption beteiligt sind.

Von anderen Autoren wurde dagegen angenommen, daß allein die Diffusion für die Resorption verantwortlich sei. Heute werden aufgrund der verschiedenartigen Ergebnisse mehrere Transportsysteme für die Aminosäureresorption im Darm angenommen.

Jede Gruppe von Aminosäuren, nämlich basische, saure und neutrale Aminosäuren, soll ein eigenes Transportsystem besitzen. D-Aminosäuren werden im allgemeinen langsamer transportiert; es scheint aufgrund der in vitro-Untersuchungen so zu sein, als ob nur die L-Isomere gegen einen Konzentrationsgradienten transportiert würden. Dinitrophenol hemmt den Aminosäuretransport. Von ROBINSON et al. (14,15) wird dieser durch Dinitrophenol hemmbare Anteil als aktiv transportierter Anteil angesehen. Allerdings haben diese Autoren lediglich Darmstückchen inkubiert. Außerdem scheint für den Aminosäuretransport Natrium erforderlich zu sein. Jedoch ist hier wiederum einzuwenden, daß diese Untersuchungen vor allen Dingen in vitro durchgeführt wurden, d.h. mit einem Untersuchungsgut, das an sich unter sehr schlechten Stoffwechselbedingungen stand und für das die zusätzliche Noxe des Natriummangels wesentlich schwerwiegender war als für lebendes Gewebe. Da der Stoffwechsel überlebender Präparate sehr rasch vermindert wird, ist nicht verwunderlich, daß auch eine Anaerobiose zur Hemmung der Akkumulation unter solchen Bedingungen führen muß; denn dadurch wird der Gewebsuntergang beschleunigt.

Nach früheren Untersuchungen ist auch die aktive Transportkapazität für einzelne Aminosäuren sehr unterschiedlich. So wird von der Glutaminsäure angenommen, daß sie rein passiv resorbiert wird. Aufgrund von in vivo-Ergebnissen wurde von JACOBS und TARNASKY (10) sogar angenommen, daß mehrere Transportsysteme für die Resorption einer Aminosäure verantwortlich sind, nämlich ein aktiver Vorgang bei der Aufnahme in die Epithelzelle und ein aktiver Vorgang bei der Abgabe aus der Epithelzelle.

Für unsere Ergebnisse sind in der Literatur wenig Vergleichsmöglichkeiten zu finden. Im allgemeinen wird in vitro nur mit sehr niedrigen Aminosäurekonzentrationen gearbeitet, mit Konzentrationen um 5 m Mol, also ungefähr 50 - 100 mg %.
In vivo kann mit nicht markierten Aminosäuren in diesem Konzentrationsbereich keine Resorptionsprüfung mehr vorgenommen werden, da aus dem Darm durch die Perfusion Aminosäuren in das Perfusionsmedium freigesetzt werden. Bei unseren Untersuchungen fanden wir dementsprechend in höheren Konzentrationsbereichen auch andere Ergebnisse als nach den in vitro-Untersuchungen zu erwarten war.
Allgemein gesehen folgt die Aminosäureresorption für alle geprüften Aminosäuren etwa den gleichen Gesetzmässigkeiten. Die Sättigungskonzentration des ersten Transportvorganges liegt bei etwa 200 m Mol Aminosäuren für alle Aminosäuregruppen.
Auch das Verhalten der Resorption nach diesem ersten Sättigungspunkt, nämlich der der Konzentrationserhöhung etwa proportionale Resorptionszuwachs, ist allen geprüften Aminosäuren gemeinsam. Bei Glutaminsäure konnte aufgrund der schlechten Löslichkeit dieser Aminosäure eine höhere Konzentration als 1 % nicht geprüft werden.

Die Resorptionsgeschwindigkeit zeigt im allgemeinen eine grobe Beziehung zum Molekulargewicht; je größer

das Molekulargewicht der Aminosäure, desto geringer ist deren Resorption. Kein Unterschied in der Resorption ist zu erkennen, wenn man die verschiedenen Gruppen untereinander vergleicht. Weder ein großer lipophiler Rest, wie bei Leucin, noch eine zweite basische Gruppe wie bei Lysin, oder eine zweite saure Gruppe wie bei Asparaginsäure und Glutaminsäure, führen zu Veränderungen der Resorptionsleistungen. Ob Veränderungen des pH-Wertes die Resorbierbarkeit der Aminosäuren verändern, wurde bisher noch nicht geprüft. Allerdings verändert sich die Ionisation der Carboxyl- und der Aminogruppen erst in extremen pH-Bereichen, in denen wie ERDLENBRUCH (4) festgestellt hat, auch die Glucoseresorption gehemmt wird und die Darmepithelien nekrotisch werden. Wie SCHAPPERER zeigen konnte, wird durch NaCl-Zusatz zur Perfusionslösung die Aminosäureresorption gesteigert. Von FÖRSTER und MEHNERT (6) war jedoch für die Glucoseresorption nachgewiesen worden, daß nicht NaCl als solches, sondern allein der dadurch bewirkte osmotische Druck wirksam ist. Entsprechende Untersuchungen für die Aminosäureresorption stehen noch aus.

Wir nehmen aufgrund unserer Ergebnisse an, daß möglicherweise ein passiver Transportvorgang vorhanden ist, der durch hohe Aminosäurekonzentrationen gesättigt wird. Anschließend kommt dann die reine Diffusion zur Geltung aufgrund ähnlicher Vorgänge, wie sie FRIEDRICH (7) für die Resorption von Pentosen nachgewiesen hat. Bei höheren Substanzkonzentrationen im Dünndarm scheinen die Poren der Epithelzellen größer und damit für verschiedene Substanzen durchlässiger zu werden.

Bei der Auswertung der Blutzuckerwerte fällt auf, daß bei höheren Aminosäurekonzentrationen im Perfusionsmedium der Blutglucoseanstieg geringer ist, als bei

"Leerperfusion". An sich ist bei der Aminosäureperfusion gegenüber der"Leerperfusion" nur ein geringgradig höherer Blutzuckeranstieg festzustellen. Dieser Anstieg ist auf gluconeogenetische Vorgänge zurückzuführen. Im allgemeinen ist der höchste Blutzuckeranstieg in jenem Bereich festzustellen, in dem das "Resorptionsplateau" anzutreffen ist. In diesem Bereich, d.h. im Sättigungsbereich des einen Resorptionsvorganges, scheint das Optimum für die Gluconeogenese zu liegen. Bei höheren Aminosäurekonzentrationen ist der Anstieg nicht nur geringer, sondern es kann sogar zu einer Abnahme des Blutzuckers während der Perfusion kommen (Siehe bei 10 % Glycin, Tabelle 1). Es ist anzunehmen, daß es sich dabei um eine toxische Wirkung der höher konzentrierten Aminosäuren handelt. Für diese Annahme spricht, daß die Tiere, die mit diesen hohen Aminosäurekonzentrationen perfundiert wurden, in einen schlechten Zustand gerieten und bei weiterer Konzentrationserhöhung verstarben.
Die Ursache für diese toxische Wirkung ist die mengenmäßig große und rasche Resorption der jeweilig im Perfusionsmedium enthaltenen höher konzentrierten Aminosäure. Bei 10 %iger L-Alaninlösung wird z.B. pro Tier mehr als 1 g Alanin pro Stunde resorbiert. So hohe Aminosäuremengen können in der Leber nicht mehr zu Glucose umgebaut und auch nicht mehr durch den Harn ausgeschieden werden. KALFASS (11) verabreichte Aminosäuren intravenös und konnte ebenfalls feststellen, daß die Tiere verstarben, sobald vergleichbare Aminosäuremengen parenteral gegeben wurden. Da zur Eiweißsynthese gleichzeitig verschiedenartige Aminosäuren benötigt werden, ist für eine einzelne Aminosäure dieser entgiftende Syntheseweg nicht gangbar. Aus diesem Grunde wirken einzelne, in höherer Menge verabreichte Aminosäuren toxisch. Dabei scheint insbesondere die Leberfunktion betroffen zu sein. Denn die Gluconeogenese, die u.a. ein Maß für diese Funktion darstellt, findet bei Zufuhr von größeren Mengen Aminosäure nicht

mehr statt, wie an den gemessenen Blutglucosespiegeln zu erkennen ist.
Noch weit mehr läßt ein Absinken des Blutzuckerspiegels unter Bedingungen, bei denen ein Anstieg zu erwarten wäre, auf eine toxische Wirkung schließen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Resorption der Aminosäuren Glycin, L-Alanin, L-Leucin, L-Lysin, L-Asparaginsäure und L-Glutaminsäure wurde im Konzentrationsbereich zwischen 0,1 und 10 % mit einer in vivo-Perfusionsmethode an 408 Ratten geprüft.

Aufgrund der Ergebnisse kann zwischen zwei verschiedenen Resorptionsvorgängen unterschieden werden. Bei einer Aminosäurekonzentration von 1 bis 2 % wurde für alle geprüften Aminosäuren eine Sättigung eines ersten Transportvorganges mit einem Absinken der Resorption festgestellt. Anschliessend wurde eine annähernd lineare Abhängigkeit zwischen Resorption und Prüfsubstanzkonzentration beobachtet. Aus diesen Ergebnissen wird die Schlußfolgerung gezogen, daß ein bei der Konzentration von 1 - 2 % gesättigtes passives Transportsystem von einem rein auf Diffusion beruhenden Resorptionsvorgang überlagert wird.
Bei einem Vergleich der verschiedenen Aminosäuren, nämlich Glycin, L-Alanin, L-Leucin, L-Lysin, L-Asparagin- und L-Glutaminsäure, konnten keine Unterschiede gefunden werden; weder eine zweite basische Gruppe (L-Lysin) noch eine zweite saure Gruppe (L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure), noch ein großer lipophiler Rest (L-Leucin) führen zu Veränderungen der Aminosäureresorption. Die einzige Rangfolge in der Resorptionsgeschwindigkeit läßt sich aufgrund des unterschiedlichen Molekulargewichtes aufstellen: Je höher das Molekulargewicht der geprüften Aminosäure ist, desto langsamer erfolgt die Resorption.

Während der Aminosäureperfusion kommt es, möglicherweise infolge der Gluconeogenese, zu einem geringfügigen Anstieg des Blutglucosespiegels. Das Maximum des Blutzuckeranstiegs fällt mit dem "Resorptionsplateau" zusammen.

Die Ergebnisse werden mit den in der Literatur vorliegenden Resultaten diskutiert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. AGAR, W.T., F.I.R. HIRD and G.S. SIDHU:
The active absorption of amino acids by the intestine,
J. Physiol. 121, 255 (1953)

2. AGAR, W.T., F.I.K. HIRD and G.S. SIDHU:
The uptake of amino acids by the intestine,
Biochim. biophys. acta 14, 80 (1954)

3. CRANE, R.K. and P. MANDELSTAM:
The active transport of sugars by various preparations
of hamster intestine,
Biochim. biophys. acta 45, 460 (1960)

4. ERDLENBRUCH, W.: Inauguraldissertation, München 1966

5. FÖRSTER, H. u. H. MEHNERT:
Resorptions- und Sekretionsprüfungen bei Perfusion des
Rattendarms mit Hypo- u. Hypertonischen Glucoselösungen.
Klin. Wschr. 41, 1167 (1963)

6. FÖRSTER, H. u. H. MEHNERT:
Experimentelle Untersuchungen zur aktiven Resorption
von Zuckern am lebenden Tier.
1. Mitteilung: Zur Frage einer Substratsättigungskurve
für die Resorption von Glucose und Galaktose
Klin. Wschr. 43, 834 (1965)

7. FRIEDRICH, G.: Inauguraldissertation, München (in Vorbereitung)

8. HÖBER, R. and J. HÖBER:
On the nature of intestinal absorption of amino acids,
Amer. J. med. Sci. 191, 873 (1936)

9. HUGGET, A. and D.A. NIXON:
Enzymic determination of blood-glucose,
Bioch. J. 66, 12 (1957)

10. JACOBS, A.F. and W.G. TARNASKY:
Primary and secundary transport systems for amino acids

in the intact intestine,
Journal of the American Medical Association 183, 765 (1963)

11. KALFASS, H.: Inauguraldissertation, München (in Vorbereitung)

12. KEILIN, D. u. E.T. HARTREE:
Properties of catalase. Catalysis of coupled oxydation of alcohols,
Biochem. J. 39, 293 (1945)

13. MEHNERT, H. u. H. FÖRSTER:
Die Prüfung der Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit mit einer neuen Methodik,
Klin. Wschr. 39, 596 (1960)

14. ROBINSON, J.W.L., J.Cl. JEQUIER and F. TAMINELLI:
The measurement of amino acid absorption in vitro,
Gastroenterologica 102, 292 (1064)

15. ROBINSON, J.W.L. and J.-P. FELBER:
The effect of tissue ageing on intestinal uptake of amino acids invitro,
Gastroenterologica 105, 17 (1966)

16. SCHAPPERER, U.: Inauguraldissertation, München (in Vorbereitung)

17. SCHUBERT, R. u. H. WAGNER:
Normalausscheidung von Periston N bei Anwendung eines neuen Kollidonnachweises,
Z. ges. exp. Med. 131, 90 (1959)

18. STÜBNER, C.: Inauguraldissertation, München 1966

19. TROLL, W. and R.K. CANNAN:
A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino and imino acids,
J. biol. Chem. 200, 803 (1953)

20. WISEMAN, G.:
Absorption from the intestine,
Academic press, London and New York 1964

Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mehnert danke ich für die Überlassung des Themas. Für sein ständiges Interesse und seine Unterstützung im Verlaufe der Arbeit danke ich Herrn Dr. H. Förster.
Herrn Prof. Dr. W. Seitz danke ich für die Erlaubnis, an seiner Klinik arbeiten zu dürfen.

L E B E N S L A U F

Am 29.9.1939 wurde ich, Peter Ulbrich, als zweiter Sohn des Apothekers Max-Adolf Ulbrich und seiner Ehefreu Erika, geb. v. Schumann in Stargard/i.P. geboren. Nach dem Volksschulbesuch in Wolfratshausen/obb. trat ich 1950 in das Realgymnasium Icking ein, wo ich am 12.7.1959 die Reifeprüfung bestand.
Nach Ableistung des Wehrdienstes begann ich im Herbst 1960 das Studium der Medizin an der Universität München. 1961 legte ich die Naturwissenschaftliche, 1963 die Ärztliche Vorprüfung ab.
Im Herbst 1966 meldete ich mich zum Medizinischen Staatsexamen.